Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 3, Fall 2021, P. 293-302

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، ص. ۳۰۲-۲۹۳

مقاله پژوهشی

اثرات بیولوژیکی گونه‌های تریکودرمای ریزوسفر گوجه‌فرنگی و قارچ‌کش بیولوژیکی Trichomax-HV علیه بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در شرایط آزمایشگاهی

سجاد جلالی[۱]- مصطفی درویش نیا[۲]*- ناصر پنجه که[۳]- سمیرا پاکباز[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۴

چکیده

پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های گوجه‌فرنگی در مناطق زیر کشت این گیاه در سراسر جهان می‌باشد. کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی با استفاده از میکروارگانیسم‌های غیر بیماری‌زا توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب نموده است. از موفق‌ترین و پرکاربردترین میکروارگانیسم‌هایی که باعث جلوگیری از خسارت قارچ‌ها در گیاهان می‌شوند، گونه‌های مختلف جنس *Trichoderma* می‌باشند. در این تحقیق اثر دو جدایه *Trichoderma harzianum* و *Trichoderma virens* و سم بیولوژیک Trichomax-HV علیه *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در آزمایشگاه و گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت آنتاگونیستی این جدایه‌ها علیه این بیمارگر در آزمایشگاه به روش کشت متقابل مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور بررسی اثر این جدایه‌های آنتاگونیست در گلخانه، ابتدا مایه تلقیح قارچ بیمارگر به یک‌سوم تحتانی خاک گلدان‌ها افزوده شد و به محض انتقال دادن گیاهچه‌ها به گلدان، آنتاگونیست‌های قارچی به گلدان‌ها اضافه شد و پس از ۶۰ روز برهم‌کنش بین بیمارگر و آنتاگونیست، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داد که *T. harzianum* به میزان ۴۸.۹ درصد، Trichomax-HV به میزان ۴۵.۶ درصد و *T. virens* به میزان ۲۲.۳۶ درصد از رشد بیمارگر (در مقایسه با شاهد) جلوگیری کردند و باعث کلونیزه کردن پرگنه‌های بیمارگر شدند. عوامل آنتاگونیست در آزمایش‌های گلخانه‌ای موجب افزایش ارتفاع ساقه، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه در غیاب بیمارگر شدند. فقط *T. harzianum* در برهم‌کنش با بیمارگر باعث افزایش ارتفاع ساقه، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه نسبت به شاهد آلوده شد.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیک، *T. harzianum*، *T. virens*

مقدمه

پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی که توسط *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ایجاد می‌شود، یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های گوجه‌فرنگی در مناطق زیر کشت این گیاه می‌باشد (۱۵ و ۳۱). تا به حال از پنج قاره جهان و دست‌کم از ۳۲ کشور دنیا گزارش شده است (۶ و ۳۵). بیماری پژمردگی آوندی موجب زردی، پژمردگی و ریزش برگ‌ها، قهوه‌ای شدن شدید بافت‌های آوندی در طول ساقه و در نهایت از بین رفتن گیاه می‌شود (۳۰). استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید، به ویژه قارچ‌های آنتاگونیست تریکودرما به عنوان راه‌کاری مکمل برای مهار قارچ بیمارگر محسوب می‌گردد (۲۲ و ۳۴). تحقیقات نشان داده است که افزودن آنتاگونیست‌های مختلف به محیط خاک و ریزوسفر می‌تواند از خسارت بیماری‌ها تا زیر آستانه زیان اقتصادی بکاهد. این موفقیت با همراه داشتن سلامت محیط زیست از مقبول‌ترین روش‌های کنترل بیماری‌ها در مبارزه تلفیقی با بیماری‌های گیاهی محسوب می‌شود (۱۳). کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی با استفاده از میکروارگانیسم‌های غیربیماری‌زا توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب نموده است. از موفق‌ترین و پرکاربردترین میکروارگانیسم‌هایی که باعث جلوگیری از خسارت قارچ‌ها در گیاهان می‌شوند، گونه‌های مختلف جنس *Trichoderma* می‌باشند (۷ و ۲۹).

۱ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل. سیستان و بلوچستان. ایران
۲ و ۴- به‌ترتیب دانشیار و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: darvishnia.m@lu.ac.ir)
DOI: 10.22067/JPP.2021.32846.0

گونه‌های *Trichoderma* spp. از مکانیسم‌های مختلفی برای مقابله با بیمارگرهای گیاهی برخوردارند، مانند افزایش مقاومت گیاه و فعال کردن واکنش‌های دفاعی، مقابله مستقیم با بیمارگر از طریق مایکوپارازیتیسم، آنتی بیوزیس، رقابت، تحریک رشد گیاه، تنظیم و القای فاکتورهای رشدی گیاه از جمله اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و اتیلن که در تحریک رشد گیاه نقش دارند (۸ و ۱۴). در مطالعه دیگری قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی از طریق فعال شدن سیستم دفاعی گیاه گوجه‌فرنگی توسط جدایه‌هایی از تریکودرما و افزایش سطح آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، مهار شده است (۲۷). به‌طور کلی تخریب بیولوژیکی اندام‌های تکثیری، بقاء و تولیدمثل، تضعیف و بیرون راندن عوامل بیماری‌زا از بقایای گیاهان و جلوگیری از تشکیل مایه آلودگی سه روش اساسی هستند که مبارزه بیولوژیکی به‌موجب آن محقق می‌شود. قارچ *Trichoderma* از جمله عوامل زنده‌ای است که می‌تواند سه مکانیسم فوق را به طور همزمان انجام دهد و در نتیجه از آن به‌عنوان یک قارچ بیولوژیک که باعث افزایش رشد گیاه و فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید می‌شود، استفاده می‌شود (۹).

مواد و روش‌ها

جداسازی قارچ بیمارگر

بوته‌های گوجه‌فرنگی که دارای نشانه‌های بارز بیماری پژمردگی فوزاریومی بودند، از مزارع گوجه‌فرنگی مناطق مختلف شهرستان‌های خرم‌آباد (رباط و دوره چگنی) و پلدختر (چم انجیر) استان لرستان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. بدین صورت که از هر مزرعه مورد بررسی در هر شهرستان (سه مزرعه گوجه‌فرنگی در هر شهرستان) تعداد ۱۰ عدد بوته آلوده به صورت تصادفی انتخاب و پس از انتقال به آزمایشگاه قطعاتی از ریشه، طوقه و ساقه آن‌ها بر روی محیط‌های عصاره سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) حاوی اسید لاکتیک کشت گردید. جداسازی قارچ بیمارگر طبق روش بنی‌هاشمی و دی‌زیو (۳) با استفاده از محیط کشت PDA اسیدی انجام شد. میان‌گره بالای طوقه و بندهای اول و دوم ساقه‌های آلوده جدا و با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱ تا ۳ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. سپس، نمونه‌ها سه بار با آب مقطر سترون شستشو داده شدند و پس از خشک‌کردن آن‌ها بر روی کاغذ صافی سترون، با استفاده از چاقوی جراحی سترون پوست رویی ساقه برداشته شد و از بافت‌های آوندی تغییر رنگ داده شده، قطعات ۵ میلی‌متری برش داده شد. از مجموع نمونه‌های تهیه‌شده از هر اندام آلوده، به‌طور جداگانه دو قطعه در یک تشتک پتری حاوی محیط PDA کشت شد و تشتک‌ها در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از ۲ روز توده‌های میسلیومی هر تشتک به یک تشتک پتری جدید حاوی محیط کشت PDA منتقل شد و تشتک‌ها تا چهار روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از رشد پرگنه قارچ، از آن‌هایی که ظاهری شبیه پرگنه‌های گونه‌های فوزاریوم داشتند کشت جدید تهیه شد. پس از جداسازی قارچ نسبت به خالص‌سازی آن با استفاده از روش تک اسپور کردن اقدام شد. شناسایی گونه‌های فوزاریوم با استفاده از کلیدهای معتبر لزلی و سامرل (۱۸)، گرلاخ و نیرنبرگ (۱۲) و نلسون و همکاران (۲۳) انجام شد. سه جدایه *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* از بوته‌های گوجه‌فرنگی آلوده مزارع گوجه‌فرنگی رباط و دوره چگنی (شهرستان خرم‌آباد) و مزارع چم انجیر (شهرستان پلدختر) انتخاب شدند. به قارچ‌های فوزاریوم جدا شده به ترتیب کدهای FOM، FOK و FOS اختصاص داده شد. از بین سه جدایه مزبور، جدایه FOM (جدا شده از مزارع رباط) که از شدت بیماری‌زایی بالاتری برخوردار بود جهت انجام آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون اثبات بیماری‌زایی روی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی

جهت تهیه مایه تلقیح قارچ فوزاریوم مطابق روش بنی‌هاشمی (۴) ابتدا مقدار ۱۰ گرم کلش خردشده گندم را به همراه ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک ارلن مایر یک لیتری ریخته و دو بار متوالی و هر بار به مدت ۲۴ ساعت در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. یک قطعه ۵ میلی‌متری از کشت ۴ روزه قارچ را به آن اضافه نموده و به مدت ۴ روز روی دستگاه شیکر در ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شد تا به‌اندازه کافی تولید اسپور نماید. با استفاده از لام هماسیتومتر جمعیت اسپور، $۱۰^۶$ اسپور در میلی‌لیتر تعیین شد. برای بررسی عکس‌العمل گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی به هر یک از جدایه‌های بیمارگر، مطابق روش منافی (۲۰) بعد از ضدعفونی سطحی بذرها با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک دقیقه و شستشو با آب مقطر سترون، به مدت ۴۸ ساعت به کمک پارچهململ مرطوب خیسانده شدند. بذرها پس از جوانه‌زنی به بسترهای کشت مخلوط خاک و پرلیت به نسبت ۱:۱ انتقال داده شدند. بیست روز بعد از نگهداری بسترها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی، گیاهچه‌های دو تا چهار برگی به دست آمده برای مایه‌زنی در نظر گرفته شدند. بر اساس روش بنی‌هاشمی (۴) ریشه گیاهچه‌ها به آرامی از بستر خارج و پس از شستشو زیر جریان ملایم شیر آب به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در سوسپانسیون میکروکنیدی فوزاریوم با تراکم $۱۰^۶$ اسپور در میلی‌لیتر فرو برده شدند. سپس گیاهچه‌ها در گلدان‌های حاوی مخلوط خاک، کوکوپیت و پرلیت به نسبت ۱:۱:۳ کشت و در گلخانه در دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در گلدان‌های شاهد به‌جای سوسپانسیون اسپور از آب مقطر سترون استفاده شد. گیاهچه‌ها هر روز مورد بررسی قرار گرفته و نشانه‌های ظاهری و تعداد گیاهچه‌های سالم و بیمار و درصد پژمردگی هر گیاهچه یادداشت‌برداری شد.

ارزش‌گذاری شدت بیماری، ۳۰ روز بعد از مایه‌زنی به روش کمال و همکاران (۱۶) و امینی (۲) با معیار نمره‌دهی پنج عددی صورت گرفت که در آن صفر: گیاه سالم و مصون از هرگونه علایم بود، ۱: ظهور نشانه‌های کلروز و پیچیدگی در برگ‌ها تا ۲۵ درصد، ۲: ظهور نشانه‌ها از ۲۶ تا ۵۰ درصد، ۳: ظهور نشانه‌ها از ۵۱ تا ۷۵ درصد، و ۴: ظهور نشانه‌ها از ۷۶ تا ۱۰۰ درصد بود.

جداسازی قارچ‌های آنتاگونیست

جداسازی قارچ‌های آنتاگونیست از خاک اطراف ریشه بوته‌های گوجه‌فرنگی مطابق روش داوه (۱۰) صورت گرفت. مقدار ۵۰۰ گرم خاک تا عمق ۲۰ سانتی‌متری از ناحیه ریزوسفر بوته‌های گوجه‌فرنگی، جدا و درون گلدان پلاستیکی ریخته شد و با اضافه کردن آب، رطوبت کافی تأمین گردید. بعد از یک هفته نگهداری گلدان‌ها در دمای اتاق، مقدار ۲۰ گرم از خاک در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به حالت تعلیق درآورده شد تا سوسپانسیون یکنواختی به دست آید. به این سوسپانسیون، یک میلی‌لیتر اسیدسیتریک برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها و یک قطره مویان (مایع ظرف‌شویی) برای معلق ماندن اسپورهای قارچ اضافه شد. از سوسپانسیون حاصل ۲ میلی‌لیتر به هر یک از تشتک‌های پتری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب آگار اتوکلاو شده که پس از سرد شدن دمای آن به حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد رسیده بود، اضافه شد و با حرکت دادن ملایم تشتک‌ها روی میز، محلول خاک با آب آگار کاملاً مخلوط شد. پس از انعقاد آگار از هر تشتک، دیسک‌هایی به قطر یک سانتی‌متر تهیه و در وسط محیط کشت انتخابی داوه یک عدد دیسک قرار داده شد. تشتک‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا میسلیوم قارچ به‌خوبی رشد کند. سپس تشتک‌ها در معرض نور فلورسنت قرار داده شدند تا کنیدی‌ها تشکیل شوند (۲۸)، آنگاه پرگنه‌های قارچی به دست آمده به روش نوک ریسه خالص‌سازی شدند.

ارزیابی اثرات آنتاگونیست‌ها بر بیمارگر در آزمایشگاه

اثرات آنتاگونیست‌های قارچی بر قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* با استفاده از روش کشت متقابل دنیس و وبستر (۱۱) در تشتک‌های پتری ۹ سانتی‌متری حاوی محیط کشت PDA صورت گرفت. ابتدا در یک حاشیه هر تشتک، یک دیسک ۵ میلی‌متری از کشت چهار روزه قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* قرار داده شد و تشتک‌ها در انکوباتور در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از گذشت یک روز در نقطه مقابل دیسک بیمارگر در حاشیه دیگر تشتک از کشت چهار روزه یکی از قارچ‌های آنتاگونیست، یک دیسک ۵ میلی‌متری گذاشته شد. در تشتک شاهد، یک دیسک از محیط کشت فاقد قارچ گذاشته شد. تشتک‌ها دوباره در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با بازدید روزانه تشتک‌های پتری و ثبت مشخصات ماکروسکوپی پرگنه‌های قارچ‌های آنتاگونیست و بیمارگر اعم از سرعت رشد پرگنه‌های قارچی، سرعت پیشروی آنتاگونیست در میسلیوم بیمارگر پس از متوقف نمودن رشد پرگنه بیمارگر، اندازه‌گیری روزانه شعاع پرگنه هر دو قارچ که نشان‌دهنده قدرت رقابت آنتاگونیست‌ها با یکدیگر و با عامل بیماری می‌باشد، و اسپورزایی قارچ آنتاگونیست بر روی پرگنه قارچ بیمارگر با مشاهدات میکروسکوپی، قدرت آنتاگونیستی جدایه‌ها مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. درصد بازدارندگی آنتاگونیست از رشد میسلیوم بیمارگر با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (رابطه ۱):

$$\text{درصد بازدارندگی آنتاگونیست از رشد قارچ بیمارگر} = \frac{\text{قطر ناحیه رشدی در شاهد} - \text{قطر ناحیه رشدی در تیمار}}{\text{قطر ناحیه رشدی در شاهد}} \times ۱۰۰$$

(رابطه ۱)

بررسی اثرات بازدارندگی آنتاگونیست‌ها از رشد بیمارگر در گلخانه

مایه تلقیح بیمارگر مطابق روش نیک‌نژاد کاظم‌پور و همکاران (۲۵) روی مخلوطی از ماسه و آرد ذرت مرطوب (۹۵ گرم ماسه + ۵ گرم آرد ذرت به‌علاوه ۵۰ میلی‌لیتر آب) که به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد سترون‌شده بود تهیه شد. برای این کار از کشت چهار روزه قارچ روی PDA استفاده شد. سوسپانسیون قارچ با غلظت ۶×۱۰^{۶} اسپور در هر میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از لام هماسیتومتر تهیه شد و ۲ میلی‌لیتر از آن به هر فلاسک حاوی ۱۰۰ گرم مخلوط ماسه و آرد ذرت اضافه شد. فلاسک‌ها در انکوباتور با دمای ۲±۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ روز قرار داده شدند. به تعدادی از فلاسک‌های حاوی ۱۰۰ گرم مخلوط ماسه و آرد ذرت به‌جای سوسپانسیون اسپور فقط ۲ میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه و در انکوباتور نگهداری شدند تا به‌عنوان شاهد مورد استفاده قرار گیرند.

تهیه سوسپانسیون *Trichoderma*

تکثیر جدایه‌های *Trichoderma* مطابق روش محمدی (۲۱) روی دانه گندم صورت گرفت. مقدار ۱۰۰ گرم دانه گندم با ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر مرطوب شد و در یک ارلن مایر ۲۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و دو روز متوالی هر بار به مدت ۴۵ دقیقه در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. پنج دیسک ۱۰ میلی‌متری از کشت چهار روزه یک‌گونه *Trichoderma* به درون ارلن مایر محتوی ۱۰۰ گرم دانه گندم اضافه شد. ارلن مایر در دمای ۲۳ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند تا قارچ کاملاً دانه‌های گندم را کلونیزه کند. به تعدادی از ارلن‌ها حاوی ۱۰۰ گرم دانه گندم فقط پنج

دیسک از محیط PDA فاقد قارچ افزوده و در انکوباتور نگهداری شدند تا به‌عنوان شاهد مورد استفاده قرار گیرند.

آمیختن مایه تلقیح بیمارگر با خاک و کاشت گیاهچه گوجه-فرنگی در آن

مایه تلقیح بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* مطابق روش نیک‌نژاد کاظم‌پور و همکاران (۲۵) به نسبت ۱۰ درصد وزنی با خاک سترون گلدانی مخلوط شد و به یک‌سوم فوقانی گلدان‌ها اضافه شد. خاک گلدانی مخلوطی از ماسه، خاک و کود حیوانی به نسبت ۱:۲:۱ بود. حجم دوسوم تحتانی گلدان‌ها با خاک پاستوریزه با نسبت یاد شده پرشده بود. گلدان‌ها به مدت ۲۵ روز در گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و ۳ روز یک بار آبیاری شدند تا بیمارگر به‌خوبی در خاک مستقر گردد. قارچ‌های آنتاگونیست بلافاصله قبل از انتقال دادن گیاهچه‌ها (در مرحله ۴-۵ برگی) به گلدان‌ها، به خاک گلدان اضافه شدند. بدین‌صورت که مطابق روش کاری دولت‌آبادی و محمدی گل‌تپه (۱۷) ۱۰ گرم سوسپانسیون یک جدایه آنتاگونیست که حاوی $۱۰^۶$ واحد تشکیل‌دهنده پرگنه (CFU) بود با یک کیلوگرم خاک گلدان مخلوط شد. ارزیابی قارچ‌کش زیستی Trichomax-HV در گلخانه به میزان ۳۰ و ۵۰ گرم در متر مربع خاک گلدان مورد استفاده قرار گرفت. خاک شاهد سالم بیمارگر مایه‌زنی نشد و خاک شاهد بیمار با آنتاگونیست آغشته نشد. برهم‌کنش بین جدایه‌های آنتاگونیست با بیمارگر مطابق روش کمال و همکاران (۱۶) و امینی (۲) پس از ۶۰ روز از طریق تعیین درصد افزایش طول گیاهچه، درصد افزایش وزن خشک و تر گیاه به دست آمد. در تیمار شاهد به‌جای سوسپانسیون اسپور باکتری از آب مقطر دو بار سترون استفاده شد. جهت تعیین درصد افزایش وزن یا ارتفاع گیاهچه‌ها مطابق روش اکرمی و ابراهیموف (۱) از فرمول زیر استفاده شد (رابطه ۲).

$$\times ۱۰۰ \frac{\text{وزن یا ارتفاع گیاهچه شاهد} - \text{وزن یا ارتفاع گیاهچه در تیمار آنتاگونیست}}{\text{وزن یا ارتفاع گیاهچه در تیمار آنتاگونیست}} =$$

درصد افزایش وزن یا ارتفاع گیاهچه (رابطه ۲)

تعیین درصد کاهش بیماری با استفاده از فرمول سیوان و همکاران (۳۳): DR%=(1-DT/DC)*100 محاسبه شد که در این فرمول DR: disease reduction به معنی کاهش بیماری، DC: disease in inoculated control به معنی بیماری در شاهد و DT: disease in treatment به معنی بیماری در تیمار می‌باشد.

این آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار انجام شد. جهت نرمال نمودن داده‌ها و یکنواخت کردن و منحنی توزیع در صورت نیاز تبدیل داده انجام شد. برای تبدیل داده‌ها مطابق روش لیتل و هیلز (۱۹) از فرمول‌های Y=asin√x که در آن x درصد کاهش بیماری و رشد قارچ می‌باشد و Y=√x که در آن x ارتفاع بوته، وزن تر بوته و وزن خشک بوته می‌باشد، استفاده شد و داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

جدایه‌های عامل بیماری

در این تحقیق سه جدایه از قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* که از بوته‌های گوجه‌فرنگی آلوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی از مزارع گوجه‌فرنگی رباط (شهرستان خرم‌آباد) و دوره چگنی و مزارع چم انجیر (شهرستان پلدختر) با سطح زیر کشت حداقل یک هکتار و هر منطقه سه مزرعه و از هر مزرعه سه نمونه جمع‌آوری و جداسازی شده بودند. به منظور اثبات بیماری‌زایی به روش آغشته‌سازی ریشه نشاء گوجه‌فرنگی در سوسپانسیون اسپور (با غلظت $۱۰^۶$ اسپور در میلی لیتر) مورد آزمایش قرار گرفتند و به جدایه‌ها به ترتیب کدهای FOM، FOK و FOS اختصاص داده شد.

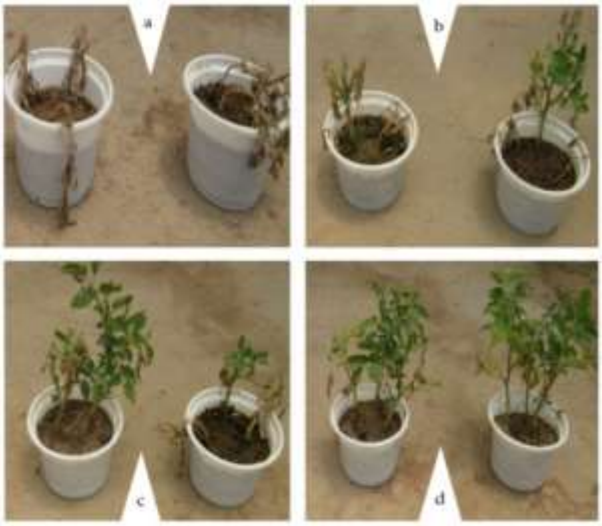
جدایه‌های آنتاگونیست

در این تحقیق ۹ مزرعه گوجه فرنگی در سطح حداقل یک هکتار و هر مزرعه سه نمونه خاک نمونه‌برداری شد. از مجموع ۲۷ نمونه خاک ناحیه ریزوسفر گوجه‌فرنگی جمع‌آوری‌شده از مزارع گوجه‌فرنگی شهرستان خرم‌آباد و پلدختر (نه نمونه از رباط، نه نمونه از دوره چگنی و نه نمونه از چم انجیر) و در مجموع ۶۷ جدایه قارچ آنتاگونیست جداسازی شد. با ارزیابی اثر بازدارندگی این جدایه‌ها از رشد بیمارگر، دو جدایه با ایجاد بیشترین هاله بازدارندگی از رشد میسلیوم بیمارگر جلوگیری کردند. انتخاب آنتاگونیست‌ها از طریق بررسی اثرات بازدارندگی آن‌ها در مقابل بیمارگر در آزمایشگاه صورت گرفت. این جدایه‌ها شامل *T. harzianum* (جداسازی شده از ریزوسفر بوته‌های گوجه‌فرنگی شهرستان خرم‌آباد) و *T. virens* (جداسازی شده از ریزوسفر بوته‌های گوجه‌فرنگی شهرستان پلدختر) بودند. جدا شدن قارچ *Trichoderma* از خاک و از ریزوسفر گوجه‌فرنگی نشان‌دهنده وجود این قارچ در خاک مزارع گوجه‌فرنگی می‌باشد. چنانچه بتوان به نحوی این آنتاگونیست مهم را در خاک افزایش داد قادر به کنترل بسیاری از قارچ‌های بیماری‌زای خاک‌زاد می‌باشد (۲۴).

نتایج آزمون اثبات بیماری‌زایی

نتایج نشان داد که هر سه جدایه FOM، FOK و FOS قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* از قدرت بیمارگری زیادی برخوردار بودند. بین دو جدایه FOM و FOK به ترتیب با ۱۰۰ و

۸۳/۲۰ درصد آلودگی، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P≤%5) ولی این دو جدایه با جدایه FOS با ۳۸/۸۷ درصد آلودگی و مرگ گیاهچه اختلاف معنی‌داری نشان دادند (P≤%5). جدایه FOM با دارا بودن قدرت بیماری‌زایی بالاتری نسبت به سایر جدایه‌های مورد آزمایش، در آزمایش‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های FOM (a)، FOK (b) و FOS (c) از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* و شاهد سالم (d) به روش آلوده‌سازی ریشه نشاء

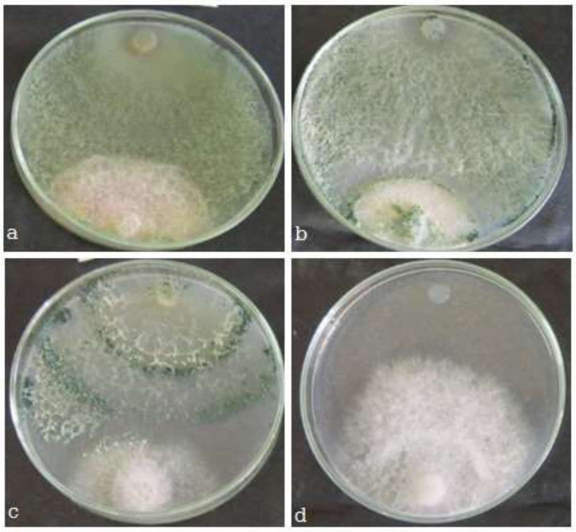
Figure 1- Comparison of pathogenicity of FOM (a), FOK (b) and FOS (c) isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and healthy control (d) by seedling root infection method

تأثیر آنتاگونیست‌های قارچی بر بیمارگر در آزمایشگاه

اثر رقابت تغذیه‌ای جدایه‌های مختلف *Trichoderma* در تقابل مستقیم با قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* مشخص کرد که جدایه‌های به‌کار رفته بعد از رشد و برخورد با پرگنه‌های قارچ عامل بیماری مانع رشد و توسعه آن شدند و سپس شروع به پیشروی، کلونیزاسیون و اسپورزایی روی ریسه بیمارگر نمودند. درصد کاهش رشد در دو زمان ۱۲۰ و ۱۴۴ ساعت پس از رشد قارچ عامل بیماری نسبت به شاهد بررسی شد. مقایسه درصد بازدارندگی جدایه‌های مختلف علیه قارچ بیمارگر نشان داد که جدایه *T. harzianum* در دو زمان ۱۲۰ و ۱۴۴ساعت پس از کشت از بیشترین مقدار بازدارندگی برخوردار بود ولی نسبت به Trichomax-HV اختلاف معنی‌داری نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفت. جدایه *T. virens* در دو زمان ۱۲۰ و ۱۴۴ ساعت پس از کشت با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد (جدول ۱). نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که قارچ *T. harzianum* از نظر کلونیزاسیون، اسپورزایی و بازدارندگی از رشد بیمارگر بهتر از دو جدایه دیگر عمل می‌کند. در بررسی کشت متقابل جدایه‌های آنتاگونیست *Trichoderma* و قارچ بیمارگر، تمام جدایه‌های قارچ‌های آنتاگونیست مورد بررسی ضمن رشد و تماس با میسلیوم قارچ بیمارگر مانع رشد و توسعه شده و سپس شروع به پیشروی، کلونیزاسیون و اسپورزایی روی ریسه‌های قارچ بیمارگر نمودند (۵) (شکل ۲).

اثر عوامل آنتاگونیست روی بیمارگر در گلخانه

در بررسی گلخانه‌ای مربوط به تأثیر جدایه‌های *Trichoderma* و قارچکش بیولوژیکی Trichomax-HV (با غلظت‌های ۵۰ و ۳۰ گرم بر متر مربع) روی بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی ملاحظه شد که همه آن‌ها اثر خوبی روی بیماری دارند. جدایه‌ها آنتاگونیست در عدم حضور بیمارگر نسبت به شاهد آلوده افزایش معنی‌داری روی شاخص‌های رشدی گیاه اعم از ارتفاع ساقه، ارتفاع ریشه، وزن تر اندام‌های هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه و کاهش شدت بیماری داشت (جدول ۲). جدایه‌ها در حضور قارچ بیمارگر باعث کاهش شدت بیماری شدند ولی تنها جدایه *T. harzianum* توانست در برهم‌کنش با قارچ بیمارگر اختلاف معنی‌داری روی همه فاکتورهای رشدی داشته باشد. طبق بررسی انجام‌شده، در آزمایش‌های قارچکش بیولوژیکی و در گلخانه *T. harzianum* بیشترین تأثیر را در کنترل قارچ بیمارگر داشتند که این به دلیل وجود سیستم پیچیده بیولوژی و اکولوژی خاک و استقرار آنتاگونیست در منطقه ریزوسفر و قدرت کلونیزاسیون ریشه و بقای عامل آنتاگونیست، pH خاک و بافت خاک می‌باشد.



شکل ۲- فاصله بازدارندگی حاصل از تقابل بین قارچ *Trichoderma* با قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* در محیط کشت PDA: *T. virens* (a)، *T. harzianum* (b)، Trichomix-HV (C) و شاهد (D)

Figure 2- Inhibitory distance from the interaction between *Trichoderma* and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* in PDA culture medium: *T. virens* (a), *T. harzianum* (b), Trichomix-HV (C) and control (D)

جدول ۱- مقایسه میانگین فاصله بازدارندگی جدایه‌های *T. harzianum*، *T. virens* و Trichomax-HV از رشد *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* در آزمایشگاه

Table 1- Mean comparison of inhibition distance of *T. harzianum, T. virens* isolates and Trichomax-HV from growth of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici in vitro*

آنتاگونیست (Treatments)	پنج روز پس از کشت			شش روز پس از کشت		
	گروه‌بندی* (Group)	بازدارندگی (Inhibitory)	قطر پرگنه	گروه‌بندی* (Group)	بازدارندگی (Inhibitory)	قطر پرگنه
T. harzianum	a	41.78	17	A	48.90	17
Trichomax-HV	a	38	18	A	45.60	18
T. virens	b	11.35	26	B	22.36	26
Control	c	0.00	29.33	C	0.00	33.67

* گروه‌بندی معرف متفاوت بودن تأثیر بازدارندگی تیمارها از رشد بیمارگر در سطح احتمال ۵٪ است.

*Grouping indicates the difference in the inhibitory effect of treatments on pathogen growth at a 5% probability level.

بر اساس نتایج به دست آمده گونه *T. harzianum* بیشترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر و همچنین افزایش ارتفاع، وزن تر و خشک بوته و کاهش شدت بیماری را در بین تیمارهای مختلف مورد آزمایش داشته است. قارچ *Trichoderma* در شرایط گلخانه‌ای تا حدود بسیار زیادی از بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در اثر قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* جلوگیری نمود (۲۶). جدا شدن قارچ‌های *Trichoderma* از خاک مناطق مختلف نشان از وجود آن‌ها در بسیاری از خاک‌های زیر کشت گیاهان است. بنابراین به نظر می‌رسد برای مبارزه با بیماری‌ها می‌توان این عوامل را به طور مصنوعی تکثیر و به خاک اضافه نمود (۳۲). در مطالعه‌ای که زمانی‌زاده و همکاران (۳۶) روی بیماری مرگ گیاهچه خیار (damping-off) در گلخانه انجام دادند، اثر قارچ‌کش زیستی تجاری Trichomax-HV، قارچ *T. harzianum* و دو قارچ‌کش تجاری (متالاکسیل و متالاکسیل-ام زد) را مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که Trichomax-HV به‌طور معنی‌داری آلودگی گیاهچه را به میزان ۸۲ درصد کاهش می‌دهد. این نتایج نشان داد که Trichomax-HV می‌تواند جایگزین مناسبی برای قارچ‌کش‌های شیمیایی در کنترل این بیماری باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر آنتاگونیستی جدایه‌های *T. harzianum*، *T. virens* و قارچ‌کش بیولوژیک Trichomax-HV (با دو غلظت ۵۰ گرم بر متر مربع و ۳۰ گرم بر متر مربع خاک گلدان) بر فاکتورهای رشدی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی و بیماری پژمردگی فوزاریومی در گلخانه در مقایسه با شاهد

Table 2- Mean comparison of the antagonistic effect of *T. harzianum, T. virens and* Trichomax-HV isolates (with two concentrations of 50 g/m^2 and 30 g/m^2 of potting soil) on growth factors of tomato seedlings and *Fusarium* wilt disease in greenhouse in comparison with the control

تیمار Treatment	ارتفاع ساقه Shoot height	ارتفاع ریشه Root height	وزن خشک‌ریشه Root dry weight	وزن خشک اندام‌های هوایی Shoot dry weight	وزن تر ریشه Root wet weight	وزن تر اندام‌های هوایی Shoot wet weight	شدت بیماری Disease severity %
Trichomax-HV 50	29.09 a	54.70 a	64.52 a	63.29 a	60.87 a	62.68 a	-
T. harzianum	25.82 a	51.91 ab	59.26 ab	57.35 ab	49.65 b	58.72 ab	-
T. harzianum + F. oxysporum	25.40 a	27.65 c	59.26 abc	51.67 abc	39.50 bcd	52.12 bc	100 a
Control	25.34 a	45.22 b	50 cd	52.46 abc	42.86 bc	53.69 abc	-
Trichomax-HV 30	24.15 a	44.16 b	42.11 d	46.79 de	42.40 bc	46.65 c	-
T. virens	21.11 ab	45.06 b	54.17 bc	57.97 ab	43.75 bc	59.12 ab	-
T. virens + F. oxysporum	15.09 bc	8.86 cd	15.38 e	43.69 bcd	29.41 cde	41.83cd	66.67 b
Trichomax-HV 30 + *F. oxysporum*	6.41 cd	27.75 c	15.38 e	18.31 bcd	14.29 e	23.11 de	55.56 c
Trichomax-HV 50 + *F. oxysporum*	6.16 cd	24.48 cd	15.38 e	24.68 cde	20.88 de	25.04 de	62.96 bc
F. oxysporum	0 d	0 d	0 e	0 e	0 e	0 e	0 d

گروه‌هایی با حروف یکسان در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

اعداد جدول میانگین سه تکرار هستند.

Groups with identical letters do not differ significantly at the 5% level.
The table numbers are the average of three iterations.

منابع

1. Akrami M., and Ebrahimof A. 2010. The Investigation efficiency of combining two *Trichoderma* species in the biological control of *Fusarium* diseases of chickpea under greenhouse conditions. Journal Uni. Agricultural Science Tabriz 1(14): 75-83.
2. Amini K. 2009. Physiological race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Kurdistan Province of Iran and reaction of some tomato cultivars to race 1 of pathogen. Plant Pathology 8: 68-73.
3. Banihashemi Z., and Dezeeuw D.J. 1969. Two improved methods for selectively isolating *Fusarium oxysporum* from soil and plant roots. Journal Plant Disease 53: 589-591.
4. Banihashmi Z. 2010. Reaction of *Cucumis melo* cultivars to races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* the cause of melon vascular wit. Journal Plant Disease 46(1): 11-22.
5. Behboudi K., Sharifi Tehrani A., Hejaroud G.H., and ZAD J. 2005. Antagonistic effects of *Trichoderma* species on *Phytophthora capsici*, the causal agent of pepper root and crown rot. Plant Phytopathology 41: 345-362.
6. Booth C. 1971. The Genus *Fusarium*, Common wealth Mycological Institute Kew, Surrey, England, Printed in Great Britain by the Eastern Press Limited London and Reading 237 pp.
7. Chet I. 1987. *Trichoderma*– Application, mode of action and potential as a biocontrol agent of soil borne plant pathogenic fungi, Innovative Approaches to Plant Disease Control (I, Chet, Ed), J. Wiley and Sons, New York: 137-160.
8. Chet I., Inbar J., and Hadar Y. 1997. Fungal Antagonists and mycoparasites in: The mycota, Environmental and microbial relationships. Wicklow, D. T. And B. soders trom (eds). Vel 4. Springer- verlag, Berlin, Germany 165-184.
9. Cook R.J., and Baker K.F. 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. American Phytopathological Society, 539 pp.
10. Davet P. 1979. Technique pour lanalyse des populations de *Trichoderma* et de *Gliocladium virens* dans le sol. Annuals Phytopathology 11: 529-533.
11. Dennis C., and Webester J. 1971. Antagonist properties of species group of *Trichoderma* 111. Hyphal interaction. Transaction of the British Mycological Society 57: 363-369.
12. Gerlach W., and Nirenberg H. 1982. The Genus *Fusarium* a Pictorial atlas. Mitt. Biol. Bundesanst. Land-und Forstwirtsch. Berlin Dahlem, 406 pp.
13. Harman G. E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., and Lorito M. 2004. *Trichoderma* species- opportunistic, avirulent

plant symbionts. Nature Reviews Microbiology 2: 43–56.

14. Howell C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Journal Plant Disease 87(1): 4-10.
15. Juber K.S., Hassan A.K., Alhamiri Y.N. 2014. Evaluation of biocontrol agents and chemical inducers for managing a vascular wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal Biology Agriculture Healthcare 4(27): 335-343.
16. Kamal A.M., Elyousr A., and Mohamed H.M. 2009. Biological control of *Fusarium* wilt in tomato by plant Growth-promoting yeast and *Rhizobacteria*. Plant Pathology 25(2): 199-204.
17. Kari Dolatabadi H., and Mohammadi Goltapeh E. 2010. In vivo biological activity of *Piriformospora indica*, *Sebacina vermifera* and *Trichoderma* spp. against *Fusarium* wilt of lentil. Journal of Plant Protection Reseach 2(2): 127-143.
18. Leslie J.F., and Summerell B.A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing Professional, Ames, USA, 388pp.
19. Little T.M., and Hills F.J. 1978. Agricultural experimentation design and analysis. John Willy & Sons 350 pp.
20. Manafi R., Babai ahri A., Arznlo M., and Valizadeh M. 2012. Evaluation common resistance varieties a greenhouse tomato to *Fusarium* wilt in East Azerbaijan province and study of biological control of the disease. Journal of Sustainable Agricultural Production 22(1): 145-158.
21. Mohammadi N. 2010. Studies on pathogenicity and genetic diversity of some Iranian isolates *Fusarium oxysporum* f. sp *lentis* and determination of resistant lentil cultivars. M. SC. Thesis, Uni. Tarbiat Modares, Iran. 134p.
22. Nawrocka J., Malolepza V. 2013. Diversity in plant systemic resistance induced by *Trichoderma*. Biology Control 67(2): 149-156.
23. Nelson P.E., Toussoun T.A., and Marasas W.F.O. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State Uni. Press, Uni. Park. 193p.
24. Niknejad Kazempour M. 1992. Effect of several fungicides and *Trichoderma* fungi on tomato pathogen Fusarium wilt *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, MSc thesis, Faculty of Agriculture Tehran Uni. Karaj: 129 p.
25. Niknejad Kazempour M., and Sharifi Tehrani A. 1992. Effect of antagonistic fungi *Trichoderma* on pathogen *Fusarium* wilt of tomato *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Laboratory and in greenhouse condition. Proc. 11th Iran. Plant Protec. Cong. Uni. Gilan-Rasht: 165p.
26. Niknejad Kazempour M., Sharifi Tehrani A., and Okhovat M. 2000. Effect of Antagonistic fungi *Trichoderma* spp. On the control of *Fusarium* wilt of tomato caused *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* under greenhouse condition. Iranian Journal Agricultural Science 31(1): 31-37. (In Persian with English abstract)
27. Ojha S., Chatterjee NC. 2012. Induction of resistance in tomato against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mediated through salicylic acid and *Trichoderma harzianum*. Journal Plant Protecttion Research 52(2): 220-225.
28. Panjekeh N., Saberian A., Afshari Azad H., and Salari M. 2011. Biological control of phomalingam, the causal agent of rapeseed blackleg, by *Trichoderma* and *Bacillus subtilis* isolates. Iranian Journal of Plant Pathology 47(1): 19-30. (In Persian with English abstract)
29. Papavizas G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and Potential for Biocontrol. Annual Review of Phytopathology 23: 23-54.
30. Pourjam E., Kamali N., and Sahebani N. 2015. Elicitation of defense responses in tomato against Meloidogyne javanica and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* wilt complex. Journal Crop Protection 4(1): 29-38.
31. Rajik M., Biswas SK., and Shakti S. 2012. Biochemical basis of defense response in plant against *Fusarium* wilt through bio-agents as an inducer. Afr Journal Agriculture Research 7(43): 5849-5857.
32. Sajadi S.A., and Asemi H. 2008. Evaluation of biological control potential *Trichoderma* species against of tobacco collar rot in Mazandaran province; New Findings in Agriculture 2(3): 253-270.
33. Sivan A., Ucko O., and Chet I. 1986. *Trichoderma harzianum* and effective biocontrol agent of *Fusarium* spp. Microbial Communities in Soil, 447pp.
34. Sundaramoorthy S., and Balabaskar P. 2013. Biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal ApplBiol Biotechnology 1(3): 36- 40.
35. Walker J.C. 1981. *Fusarium* wilt of tomato. Monograph NO. 6, APS Press, 56 pp.
36. Zamanizadeh H.R., Hatami N., Aminaee M.M., and Rakhshandehroo F. 2011. Application of biofungicides in control of damping disease off in greenhouse crops as a possible substitute to synthetic fungicides. International Journal Environment Science Technology 8 (1): 129-136.

Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 3, Fall 2021, P. 293-302

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، ص. ۳۰۲-۲۹۳

Biological Effects of *Trichoderma* spp. Isolated from Tomato Rhizosphere and Trichomax-HV Biofungicide against Tomato *Fusarium* Wilt *in Vitro*

S. Jalali[1]- M. Darvishnia[2*]- N. Panjekeh[3]- S. Pakbaz[4]
Received: 14-11-2020
Accepted: 15-07-2021

Introduction: *Fusarium* wilt of tomato is one of the most important and common tomato diseases growing in the cultivated areas of this plant around the world. Biological control of plant diseases using non-pathogenic microorganisms has attracted the attention of many researchers. *Trichoderma* is one of the most successful and widely used microorganisms that prevent fungal damage in plants. *Trichoderma* spp. have different mechanisms to deal with plant pathogens, such as increasing plant resistance and activating defense reactions, direct confrontation with the pathogen through mycoparasitism, antibiosis, competition, plant growth stimulation, regulation and induction of plant growth factors including auxins, cytokinins and ethylene that stimulate growth Plants are involved. Totally, they destroyed biological reproductive organs, survival and reproduction, weakening and expelling pathogens from plant debris and preventing the formation of contaminants are the three basic methods by which biological control is achieved. *Trichoderma* is one of the living fungi that can perform the above three mechanisms simultaneously and as a result it is used as a biological fungus that increases plant growth and activity of beneficial microorganisms.

Material and Methods: In this study, the effects of two isolates; *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma virens*, and biological toxin of Trichomax-HV against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* which is the agent of *Fusarium* wilt disease in tomato was evaluated in the laboratory and greenhouse. Trichomax-HV is a biofungicide that use as commercially. During summer and autumn, tomato plants with obvious signs of *Fusarium* wilt were collected from tomato fields in different parts of Lorestan province and transferred to the laboratory. Isolation of pathogenic fungi was performed according to Bani Hashemi and Dezeeuw methods using acidic PDA culture medium. Antagonistic activity of these isolates against this pathogen was studied by dual culture method in the laboratory. In order to investigate the effect of these antagonist isolates in the greenhouse, first the inoculum of pathogenic fungus and fungal antagonists were added to the pots as soon as the seedlings were transferred to the pots and then after 60-days, the interactions between the pathogen and antagonist was evaluated. This test was performed in a completely randomized design with 10 treatments and three replications. The data obtained from the experiment were statistically analyzed using SPSS 16 software and the average of the treatments were compared using Duncan's multiple range test at 5% probability level.

Results and Discussion: In this study, a total of three isolates of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* were isolated from tomato plants infected with *Fusarium* wilt disease from Robat and Chegeni Dore tomato fields (Khorramabad city) and Cham fig fields (Poldokhtar city) that was assigned them codes FOM, FOK and FOS respectively. A total of 27 fungal isolates were isolated from soil samples of tomato rhizosphere collected from tomato fields of two cities in Lorestan province. By evaluating the inhibitory effect of these isolates on pathogenic growth, two isolates prevented the growth of pathogenic mycelium by creating an inhibitory aura. The results of laboratory studies showed that *T. harzianum* by 48.9 percent, Trichomax-HV by 45.6 percent and *T. virens* to 22.36 percent prevented the growth of pathogen and colonized the pathogen's colonies (in comparison with the control). Antagonist agents in greenhouse experiments increased stem height, wet and dry weight of shoots and root in the absence of pathogen. Comparing with the control sample, only the isolate *T. harzianum* in the interaction with the pathogen increased the plant height, wet and dry weight of shoots and root. According to study, in the greenhouse biological tests of biofungicide (Trichomax-HV) and *Trichoderma* spp. had shown good control on causal agent of the disease (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*). Among these treatments, *T. harzianum* had the best effect on the control of pathogenic fungi, which is due to the complex

1 and 3- M.Sc. Student and Associate Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Zabol University, Sistan & Balouchestan, Iran, respectively.
2 and 4- Associate Professor and Asistant Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: darvishnia.m@lu.ac.ir)
DOI: 10.22067/JPP.2021.32846.0

system of soil biology and ecology and the presence of antagonists in the rhizosphere and the power of root colonization and antagonist survival, soil pH and soil texture.

Conclusion: Based on the this study results, *T. harzianum* had the highest percentage of inhibition of pathogenic fungal growth as well as increase in height, fresh and dry weight of the plant and decrease in disease severity among the different treatments tested. In greenhouse conditions, *T. harzianum* prevented from tomato *Fusarium* wilt disease (caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) in very large extent. Also this results showed that Trichomax-HV could be a viable alternative to chemical fungicides in controlling this disease.

Keywords: Biological Control, *T. harzianum*, *T. virens*